

VERÄNDERUNGEN DER EIWEISSZUSAMMENSETZUNG
IM MAGENSAFT
BEI ULCUS DUODENI VOR UND NACH
SELEKTIVER PROXIMALER VAGOTOMIE
MIT PYLOROPLASTIK
AUFTRENNUNG DER PROTEINE MIT HILFE
VON AGARELEKTROPHORESE,
IMMUNELEKTROPHORESE UND IMMUNDIFFUSION

Peter René Hinke

1977

Aus der Chirurgischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. F. Holle

VERÄNDERUNGEN DER EIWESSZUSAMMENSETZUNG IM MAGENSAFT
BEI ULCUS DUODENI VOR UND NACH
SELEKTIVER PROXIMALER VAGOTOMIE MIT PYLOROPLASTIK
AUFTRENNUNG DER PROTEINE MIT HILFE VON AGARELEKTROPHORESE,
IMMUNELEKTROPHORESE UND IMMUNDIFFUSION



Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter René Hinke
aus München
1977



Mit Genehmigung des Medizinischen Fachbereichs der
Universität München

Berichterstatter:	Priv.Do. Dr.W.L.Brückner
Mitberichterstatter:	Professor Dr.F.Holle
Dekan:	Professor Dr.W.Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	8.11.77

Meiner lieben Mutter

Meinem lieben Vater

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. Einleitung	1
2. Geschichtlicher Überblick	2
3. Physiologie und Pathophysiologie des Magenschleims	4
4. Material und Methodik	10
5. Ergebnisse	20
6. Diskussion	24
7. Zusammenfassung	30

Anhang

I. Abbildungen	31
II. Literaturverzeichnis	36

1. EINLEITUNG

Die Untersuchungen über den Magen waren lange Zeit auf das Studium der Elektrolyte und Enzyme beschränkt. Die Schleimsekretion ist lange vernachlässigt worden, da bisher keine exakten Meßmethoden vorlagen. Auf Grund dessen kam es zu widersprüchlichen Befunden. Die vorliegenden Magenuntersuchungen liefern nur spärliche Informationen über die hochmolekularen Komponenten des Magensaftes bei Erkrankungen des Magens. Die Bestimmung von Säure und Pepsin läßt nur beschränkte Rückschlüsse auf die zugrundeliegenden pathogenetischen Faktoren bei Entstehung des peptischen Ulcus zu. PFISTER (38) fand bei Patienten mit Ulcus duodeni nach selektiver proximaler Vagotomie und Pyloroplastik (= SPV + PP) nach HOLLE (27,28) einen Anstieg von Gesamtmenge und Konzentration der Proteine.

Meine Aufgabe war es, im Rahmen des klinischen Untersuchungsprogrammes von BRÜCKNER, mit Hilfe der Elektrophorese diesen Anstieg näher zu charakterisieren. Ich sollte hierbei untersuchen, welche Eiweißfraktionen diesen Anstieg verursachen.

2. GESCHICHTLICHER ÜBERBLICK

GLASS (11) beginnt 1949 mit der chemischen Auftrennung großer Molekülkomponenten im Magensaft. Er erhielt zunächst drei Fraktionen bei der Auftrennung von Magenschleim.

PUGH et al.(43) gelang es 1952 weitere Fraktionen des Magensaftes zu trennen.

HILLER (22) fand 1953 mittels Papierelektrophorese fünf Proteinfraktionen, die er im Vergleich mit der Serumelektrophorese als Albumin, Alpha-, Beta- und Gamma-Globuline bezeichnete.

GLASS (12,15) beschäftigte sich ab 1956 sehr eingehend mit den makromolekularen Substanzen des Magensaftes und fand acht bis elf Fraktionen mit Hilfe der Papierelektrophorese.

RICHMOND, CAPUTTO und WOLF (44,45) waren 1957 die Ersten, die mittels Kunsthharzsäulen (Amberlite ICR50) fünf Proteinfraktionen im Magensaft fanden.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Identifizierung der Proteine brachte die Anwendung immunochemischer Methoden. HOLMAN (29) wies 1959 mit der Immundiffusion nach Ouchterlony mit Antihumanserum und spezifischen Antiseren Albumin und Gamma-Globulin im Magensaft von Gesunden nach.

GROSS et al.(19) entdeckten 1960 mit Hilfe der Immun-elektrophorese Albumin und drei Globuline.

HEISKELL (20), GLASS (14) und TENEROVA (53) kamen 1961 zu ähnlichen Ergebnissen, wobei sie drei bis fünf Präzipitatbögen nachwiesen. BOLKOVA (2) fand 1966 mit Antihumanserum und selbst hergestelltem Antimagensaftserum sieben bis elf Präzipitate. HIRSCH-MARIE und BURTIN (23) entdeckten jedoch schon 1963 mit Antihumanserum und Antimagensaftserum sechs Serumproteine und sechs nicht im Serum vorkommende Proteine im Magensaft von Gesunden.

Abschließend ist zu sagen, daß mit verschiedenen Methoden vier bis elf Eiweißkomponenten im menschlichen Magensaft gefunden wurden. Dabei handelt es sich zum Teil um Serumproteine, aber auch um magenspezifische Eiweiße wie Mucoproteide, Proteinspaltprodukte und Pepsin.

3. PHYSIOLOGIE UND PATHOPHYSIOLOGIE DES MAGENSCHLEIMS

Das Magensekret besteht aus Wasser, Elektrolyten (vor allem H^+ , Na^+ , Cl^-) und Makromolekülen. Bei den letzteren handelt es sich um Schleimsubstanzen, Enzyme, Serumproteine, Peptide, Produkte des enzymatischen Abbaus, Blutgruppensubstanzen sowie den Intrinsic Faktor. Die Belegzellen, auch Parietalzellen genannt, sezernieren vor allem HCl und in geringerem Maße auch andere Elektrolyte, die Hauptzellen synthetisieren, speichern und sezernieren. Pepsinogen und die Nebenzellen produzieren Schleim. Ungeklärt ist, ob aus den Lymphspalten Flüssigkeit in den Magen strömt.

3.1. Proteine des Magensekretes

Der anazide Magensaft enthält in geringen Mengen Serumproteine, vor allem Albumin (20mg%); sie sind jedoch im sauren Magensaft schwer nachzuweisen, da sie intragastral sofort verdaut werden. (HENNING et al.(21)). TENEROVA(53) und GÖTZ(16) wiesen 1961 mit immunologischen Methoden Serumglobuline nach. Daneben gibt es aber eine Reihe magenspezifischer Proteine, die von HIRSCH-MARIE(23) und BOLKOVA(2) mit selbsthergestellten Antiseren dargestellt wurden.

Besondere Bedeutung haben die Schleimsu**bs**tanzen des Magensaftes. Ihr Verhältnis Protein zu Zucker beträgt 2 : 1 (10).

Man unterscheidet zwei Gruppen:

- Mucopolysaccharide mit einem wechselnden Anteil von Schwefelsäureresten und einem festen Anteil an Glucuronsäure.
- Glykoproteine; ihre Hauptkette besteht aus Polypeptiden, die Seitenketten bilden 10 bis 15 Monosaccharide (Glucose, Galactose, Mannose, N-Acetylhexosamin, N-Acetylneuraminsäure). Je nach Anteil der Säure unterscheidet man:

Neutrale Glykoproteine; sie haben als Blutgruppen-Antigene Bedeutung.

Saure Glykoproteine (=Sialomucine); sie sind gekennzeichnet durch einen hohen Anteil an N-Acetylneuraminsäure und verleihen dem Magenschleim seine außerordentliche Zähigkeit, die sicher einen wesentlichen Schutzfaktor gegen Pepsin und HCl darstellt (KOWALEWSKI (31)). Unbekannt ist allerdings, auf Grund welcher chemisch-physikalischer Eigenschaften dies geschieht. SCHRAGER(48) vermutete, daß saure Glykoproteine über Disulfidbrücken ein nahezu undurchdringliches Netzwerk über der Mucosa bilden und den Rückstrom von Pepsin und H^+ -Ionen verhindern. Im Widerspruch hierzu stehen aber die Ergebnisse von WALDRON-EDWARD(54). Er fand im Magenschleim keine Disulfidbrücken. Später korrigierte SCHRAGER(46) seine Theorie dahingehend, daß der hohe Gehalt an ausschließlich endständiger N-Acetyl-

neuraminsäure auf Grund ihrer Polarität zu einer sterischen Hemmung proteolytischer Enzyme führt. Ein Mangel an sauren Glykoproteinen müßte also zu einer erhöhten Verletzlichkeit der Schleimhaut führen. Dies bestätigen die Ergebnisse von DOMSCHKE(8), der bei *Ulcus ventriculi* weniger saure Glykoproteine als bei Gesunden fand.

3.2. Pepsin

Schon 1836 beobachtete SCHWANN(49) die verdauende Funktion des Magensaftes und beschrieb ein Ferment, das nur in Gegenwart von Säure festes Eiklar verdaute. Er nannte es Pepsin. Es entsteht in den Hauptzellen durch Säureeinwirkung unter Abspaltung einer Peptidkette aus Pepsinogen. Pepsin ist empfindlich gegen Hitze und Alkali. Die Synthese und Sekretion des Pepsinogen läuft kontinuierlich ab, also auch in der interdigestiven Phase(=Basalsekretion) und wird als sogenannter Überlauf ins Magenlumen abgegeben. Einer der wirksamsten Stimuli für die Pepsinsekretion ist der Nervus Vagus, ferner Gastrin, Acetylcholin und Histamin. Bei Stimulation werden große Mengen gespeichertes Pepsinogen ins Magenlumen abgegeben. Die Pepsinkonzentration erreicht hierbei noch vor der Wasser- und Elektrolytkonzentration ihr Maximum (Wash-out Effekt).

HIRSCHOWITZ(24) berichtet, daß Patienten mit einem Ulcus duodeni etwa 1,5mal soviel Pepsinogen sezernieren als Gesunde.

3.3. Der Magenschleim und seine Schutzfunktion

Die Frage, warum sich der Magen nicht selbst verdaut, beschäftigt die Medizin schon seit langem. Im Laufe der letzten 200 Jahre kristallisierten sich vier wesentliche Schutzfaktoren heraus. 1772 wies HUNTER auf die Bedeutung einer ungestörten Durchblutung des Magens hin. VIRCHOW machte 1853 auf das Neutralisationsvermögen des Blutes aufmerksam, das rückdiffundierende H^+ -Ionen sofort neutralisiert. Den Magenschleim betonte BERNARD im Jahre 1855, durch den eine Rückdiffusion von Pepsin verhindert werden soll. Schließlich postulierte DANILEVSKI 1903 einen Hemmfaktor für Pepsin. (54)

Nach HOLLANDER(26) setzt sich die Schleimhautbarriere aus zwei Faktoren zusammen(The two component mucous barrier):

- a) Der zähflüssige Magenschleim
- b) Das Zylinder- und kubische Epithel der Magenschleimhaut.

Verschiedene Forschungsergebnisse scheinen diese Theorie zu bestätigen, wenngleich sie bis heute umstritten ist. Durch eiweißfreie Diät induzierten

HÖLZEL und DA COSTA(25) bei Ratten Ulcera; sie nahmen an, daß die Regenerationsrate des Epithels hinter der Desquamationsrate zurückbleibt und so die Schutzfunktion vermindert wird. CURT und PRINGLE(6) fanden bei Ulcus duodeni einen erhöht viskösen Magenschleim, der einen HCl reicheren Magensaft ins Duodenum fließen läßt. DOMSCHKE(8) fand, wie schon erwähnt, bei Ulcus ventriculi einen erniedrigten Gehalt an Glykoproteinen, deren Säuregehalt entscheidend für die chemisch-physikalischen Eigenschaften des Magenschleims ist.

3.4. Störungen der gastraln Schleimsekretion

Untersuchungen über Zusammenhänge von gestörter Schleimsekretion und dem Auftreten von Ulcera sind bisher vor allem bei Tieren durchgeführt worden.(GHEORGHIU(10) MOZSIK(36)) Sie haben aber wenig Klärung beim Menschen gebracht. Die Zusammensetzung des menschlichen Magenschleims wurde besonders von GLASS(13), SCHRAGER(46) und PIPER et al.(41,42) untersucht.

PIPER und SCHRAGER fanden mit Papierchromatographischen Methoden bei Magencarcinom-Patienten eine relative Zunahme der Glucosereste, nicht aber bei Ulcus-Patienten. SCHRAGER(48) bemerkte bei Ulcus duodeni eine Abnahme von sulfatierten Schleimsustanzen. Alcianblau soll eine besondere

Affinität zu Schleimsubstanzen haben und war laut PIPER(39) bei Patienten mit Ulcus duodeni bzw. -ventriculi deutlich gesteigert. CIEUCIURA(4) hingegen konnte mit Alcianblau bei Ulcuspatienten eine deutliche Abnahme der Mucosubstanzen nachweisen. Leider sind die Ergebnisse nicht zwingend, da Alcianblau auch eine hohe Affinität zu Albumin, DNA und RNA besitzt(SCOTT(50)).

3.5. Pharmakologische Beeinflussung des Magenschleims

Über das Natriumsalz des Bernsteinsäureesters der Glyzyrrhetinsäure (=Carbenoxolon-Na) berichtete DOLL et al.(7) 1962 erstmals, daß es die Heilung von Magen- und/oder Duodenalulcera beschleunigt. Seither gibt es zahlreiche widersprüchliche Meldungen, ob Carbenoxolon einen heilenden Effekt besitzt oder nicht. Bei Hunden verlängert Carbenoxolon die Lebensdauer der Epithelzellen um 50% (LIPKIN(33)), ebenso steigert es die Schleimsekretion beträchtlich (CROSS et al. (5)). Bei Patienten mit Magenulcus oder Gastritis konnten MAIWALD und WEICKER(35) diese Ergebnisse nicht bestätigen. Die wichtigsten Nebenwirkungen von Carbenoxolon sind: Na-Retention, die aber durch Gabe von Diuretika klein gehalten werden kann, Hypokaliämie und Myoglobinurie.

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. MATERIAL

Ich habe die Nüchtern- und Basalfraktionen von insgesamt 52 Patienten mit röntgenologisch, endoskopisch und histologisch gesichertem Ulcus duodeni untersucht. Davon waren 13 Patienten unbehandelt (=präoperativ), und 39 Patienten wurden in verschiedenen Zeitabständen nach SPV +PP (=postoperativ) untersucht.

Das Patientenkollektiv gliederte sich zeitlich auf wie folgt:

PRÄOPERATIV	POSTOPERATIV SPV +PP				
	0,5 - 1,5	2	3	4 - 6	JAHRE
13	12	6	10	11	PAT.

Sämtliche Fälle nach SPV + PP waren insulinnegativ nach den Kriterien von KAY und ROSS (zit.nach HOLLE(27))

Die vier Normalpersonen hatten keine Symptomatik im Bereich des Gastrointestinaltraktes und keine Herz-Kreislaufbeschwerden.

4.2. METHODIK

4.2.1. Gewinnung des Magensaftes

Zunächst habe ich in Linksseitenlage des Patienten über eine doppelläufige Gastralsonde (Fa. Sherwood Med. Ind.) das Magensekret abgehebert (1. Nüchternfraktion). Danach wurde über eine halbe Stunde lang in zehnminütigen Abständen das Basalsekret abgesaugt. Anschließend erfolgte die Stimulation der Sekretion mit Pentagastrin (Gastrodiagnost der Fa. E. Merck, 6 μ g/kg). In zehnminütigen Abständen wurde dann über eine Stunde lang das Magensekret abgehebert.

Von den einzelnen Fraktionen bestimmte ich sofort Volumen, pH und Gesamtsäuremenge. Die einzelnen Fraktionen wurden, sofern ihr pH kleiner 6 war, mit 0,1-normaler Natronlauge bis zum Umschlag von Bromthymol bei pH 6 bis 7.6 neutralisiert. Durch Neutralisation und Einfrieren bei -36° Celsius wurden die Proben depepsiniert (30). Für die Immundiffusion mit spezifischen Antiseren wurde nach MAIWALD und REGNAT (34) zu 2ml Magensaft 8ml Dimethylsulfoxid (DMSO) zugesetzt, um durch Dehydratation das Eiweiß reversibel auszufällen. Das Gemisch wurde, um die Eiweißfällung zu erleichtern, 24 Stunden bei $+8^{\circ}$ Celsius aufbewahrt.

Die Fraktionen wurden sodann zehn Minuten bei 3000r/min zentrifugiert. In Fällen, in denen sichtbarer Schleim vorhanden war, homogenisierte ich mit Ultra-Turrax(Fa.Jahnke&Kunkel KG,Staufen/Br.)

4.2.2. Konzentrierung der Proteine

Ich dialysierte und konzentrierte 3ml Magensaft durch Saugfiltration mit Kollodiumhülsen(Fa, Sartorius) gegen destilliertes Wasser bei ca. $0,8 \text{ kp/cm}^2$ und Zimmertemperatur. Die Hülsen bestanden aus Zellulosenitrat, ihre Porengröße betrug 8nm. Es erfolgte eine Abtrennung von Stoffen, deren Molekulargewicht größer 12400 war. Nach 2,5 bis 3 Stunden wurden 50 bis 10 μl Konzentrat entnommen, das entspricht einer Konzentrierung um das 60 bis 300-fache.

4.2.3. Herstellung des Agargels für Agar- und Immun-elektrophorese und Immundiffusion

Ich erhitzte ein Gemisch aus 0,3g Agar purum (Behring Werke AG), 10ml Veronalpuffer* und 10ml Aqua bidest. bis zur Bildung einer klaren Lösung. Diese wurde durch Filtrieren von etwaigen ungelösten Bestandteilen befreit.

Für die Immundiffusion mit spezifischen Antiseren verwendete ich nach MAIWALD und REGNAT (34) ein Gemisch aus 0,3g Agar purum (Behring Werke AG), 27ml Veronalpuffer*, 3ml Dimethylsulfoxid (DMSO) und 24ml Aqua bidest. Die weitere Behandlung erfolgte dann wie oben.

Nach Zusatz von 1mg Thiomerosal wurden mit einer Pipette auf fettfreie und waagrecht liegende Glasplättchen (Wasserwaage!) 4ml für die Immunelektrophoreseplättchen (4x7.5 cm) bzw. 25ml für die Agarelektrophoreseplatten (20x7.5cm) aufgetragen.

Nach Erstarren des Agargels habe ich für die Immunelektrophorese mit einer Spezialstanze (Fa. Egaton/Schweiz) zwei Rillen und drei Löcher ausgehoben, die das aufzutrennende Material und die Antiseren aufnehmen sollen.

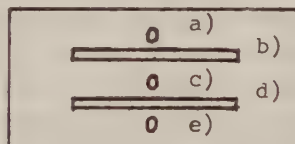


Abb. 1

* Diäthylbarbiturat-Acetat- Puffer pH= 8.2 μ = 0,1
13,38g Natrium- Diäthylbarbiturat } Aqua dest.
8, 83g Natrium- Acetat reinst kristallisiert } ad 1,5l
ca. 180ml 0,1- normale Salzsäure }

Die genaue Einstellung des pH-Wertes erfolgte durch Zugabe einiger Tropfen 0,1-n Salzsäure oder 0,1-n Natronlauge. Die Ionenstärke beträgt dann μ = 0,1.

Die Löcher hatten einen Durchmesser von 2mm und lagen in einem Abstand von 2,5mm von den Rillen entfernt.

4.2.4. Immunseren

- Kommerzielles Antihumanserum vom Kaninchen (Fa. Behring Werke AG)

- Selbsthergestelltes Antimagenschleimhautserum und Magensaftserum:

Zwei Hasen von etwa 2,5kg Gewicht habe ich in zwei Serien folgendermaßen immunisiert:

Ich homogenisierte in frischem Zustand unter Thymolzusatz ein Stück Magenschleimhaut aus einem nicht infiltrierten Abschnitt eines Carcinom-Magens, zentri fugierte die unlöslichen Bestandteile ab und verwendete die visköse Lösung zum Immunisieren.

Das Magensaftgemisch behandelte ich wie unter "Gewinnung des Magensaftes" (S.11) und "Konzentrierung der Proteine" (S.12) beschrieben.

Immunisierung

1. Injektionsserie: etwa 10mg einer Emulsion bestehend aus gleichen Teilen Magenschleimhaut- bzw. Magensaftantigen und Freund'schem Adjuvans (Fa. Behring Werke AG) wurden in die Lymphknoten

der Vorder- und Hinterläufe und in die Lymphknoten zwischen den Schulterblättern sowie an vier Stellen am Rücken injiziert.

2. Injektionsserie: Nach 21 Tagen injizierte ich im Abstand von zwei Tagen vormittags jeweils 3x10mg subcutan und nachmittags 10mg intramuskulär.

Zwei und vier Tage nach der letzten Injektionsserie wurde eine Versuchsblutung und ein Ouchterlony-Test durchgeführt. Dann wurden 10mg Antigen injiziert und zwar nach dem Muster der 2. Injektionsserie.

Da der Ouchterlony-Test befriedigend war, entblutete ich den Hasen fünf Tage später unter Narkose aus der Carotis. Zur Narkose wurde 80mg/kg Evipan verwendet.

Das so erhaltene Immuneserum wurde ohne Konservierungsmittel bei -36°C aufbewahrt.

4.2.5. Durchführung der Immunelektrophorese mit Antihumanserum und Antimagensaftserum

Ich wendete die von GRABAR (17) entwickelte Methode an.

- Einfüllen des Antigens

2 bis 5 μl des konzentrierten Magensaftes füllte ich mit einer Mikropipette in das in der Skizze (Abb.1)

mit "c" bezeichnete Loch ein. In die Löcher "a" und "e" wurde als Kontrolle 2 bis 5 μ l Normalserum eingefüllt.

- Elektrophorese

In einer Elektrophoresekammer (Fa. Behringwerke AG) wurden die mit Magensaft und Normalserum beschickten Agarplättchen völlig waagerecht (Wasserwaage) nebeneinander angeordnet. Den Kontakt mit dem Gemisch aus gleichen Teilen Puffer und Aqua bidest. stellten angefeuchtete Filterpapierstreifen her, die auf beiden Seiten der Agarplättchen fest auf dem Agar auflagen. Die Spannung zwischen den Agarplättchenenden betrug 45 Volt. Die Spannung wurde konstant gehalten. Eine ausreichende elektrophoretische Auftrennung erfolgte innerhalb von 45 Minuten. Die Zuführung von Eiswasser mit einer Kühlschlange dicht oberhalb der Platten verhinderte eine zu starke Erwärmung.

- Einfüllen der Antiseren

Nach beendeter Elektrophorese wurde aus den vorgestanzten Rillen "b" und "d" (Abb.1), für die Aufnahme der Antisera, der Agar mit Hilfe eines kleinen Spatels herausgehoben. In die Rille "b" kam unverdünntes kommerzielles Antihumanserum vom

Kaninchen (Fa. Behringwerke AG) und in die Rille "d" selbsthergestelltes Antimagenschleimhautserum bzw. Antimagensaftserum ebenfalls unverdünnt eingefüllt. Die Antiserummenge betrug 30 μ l. Die mit Antiserum beschickten Agarplättchen brachte ich, zur Entwicklung der Immunpräzipitate, 18 Stunden in eine feuchte Kammer.

4.2.6. Durchführung der Agargel-Elektrophorese

- Auftragen der Proben

Auf die mit flüssigem Agar beschichtete Glasplatte (20x7,5) wurden mit der Gelstanze für Screening-Elektrophorese (Behring-Werke AG) 15 Schlitzte ausgespart (8x0,5mm) und 15 μ l des konzentrierten Magensaftes mit einer Mikropipette eingefüllt.

- Elektrophorese

Die auf diese Weise vorbereiteten Platten wurden waagerecht (Wasserwaage) in die obengenannte Elektrophoresekammer eingelegt. Den Kontakt mit dem Gemisch aus gleichen Teilen Puffer und Aqua bidest. stellten wieder angefeuchtete Filterpapierstreifen her. Die Spannung zwischen den Objektträgerenden betrug 45 Volt, die Stromstärke 50 mA. Die Spannung wurde konstant gehalten. Die Zuführung von Eiswasser besorgte wieder eine Kühlschlange, die dicht oberhalb der Platten eine zu starke Erwärmung vermied.

4.2.7. Durchführung der Immundiffusion

Aus den nach MAIWALD und REGNAT (34) vorbereiteten Agarplättchen wurde mit einer Spezialstanze eine etwa 3cm lange und 2mm breite Rille ausgehoben und im Abstand von 2,5mm etwa 2,5mm breite Löcher ausgestanzt. In diese wurde 2 bis 5 μ l nach MAIWALD und REGNAT (34) behandelter Magensaft eingefüllt. Die Rille nahm das spezifische Antiserum auf. Zur Ausbildung der Präzipitate legte ich die Plättchen 18 Stunden in eine feuchte Kammer. Die Magensäfte habe ich mit folgenden kommerziellen spezifischen Antiseren (Behring-Werke AG) auf Eiweiß untersucht:

Anti-saures- α_1 -Glykoprotein
Anti- α_2 -Makroglobulin
Anti- α_1 -Antitrypsin
Antitransferrin
Antiimmunglobulin.

4.2.8. Färbung

- Immunpräzipitate

Die Agarplättchen wurden zwei Tage mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, um alles nicht präzipitierte Protein aus dem Agar zu entfernen. Danach legte ich sie 15 Minuten in 3%-igen Eis-

essig, bedeckte sie dann mit angefeuchteten Filterpapierstreifen und trocknete sie vollständig an der Luft. Nach dem Abnehmen der Filterpapierstreifen wurde die Färbung mit Amidoschwarz 10B in der üblichen Weise vorgenommen.

- Agarelektrophoreseplatten

Diese wurden lediglich 15 Minuten in 3%-igen Eisessig gelegt, mit angefeuchteten Filterpapierstreifen bedeckt und an der Luft vollständig getrocknet. Anschließend erfolgte die Färbung mit Amidoschwarz 10B, wie üblich.

5. ERGEBNISSE

5.1. Präoperativ

Bei den 13 Patienten mit Ulcus duodeni lag der pH-Wert in allen Basalfraktionen unter 1.6. Sie zeigten mit keiner Methode Präzipitate (Abb.6).

5.2. Postoperativ

Alle Basalfraktionen waren bei 39 Patienten mit SPV +PP subazid bis anazid (pH < 6).

- Agarelektrophorese

Es ergaben sich drei Banden, die im Vergleich zur Serumelektrophorese in Höhe des Albumins, des Beta- und Gamma-Globulins lagen (Abb. 2).

- Immunelektrophorese mit Antihumanserum

Hier ergaben sich für alle untersuchten Zeitabschnitte nach SPV + PP vier bis sieben Präzipitate (Abb.3,4). Vier Präzipitate traten konstant auf. Sie haben im Vergleich zur Serumimmunelektrophorese in der Richtung von der Kathode zur Anode folgende Lage:

Im Albuminbereich eine Präzipitatsichel; sie ist von allen Magensaftproteinen immer am stärksten ausgeprägt. Sie ähnelt in ihrer Form und Lage sehr stark dem Serumalbumin, wenngleich sie

dünner ist, einen kleineren Radius hat und eine schmälere Basis besitzt. Häufig ist sie etwas weiter in Richtung Kathode gewandert.

Ein Präzipitat im Alpha_1 -Bereich.

Eine Sichel im Bereich der Beta-Globuline.

Eine Linie im Gamma-Globulinbereich. Sie ähnelt in ihrer Lage, Form und Ausdehnung sehr stark dem Gamma-G-Globulin.

- Immunelektrophorese mit Antimagenschleimhautserum

Es fanden sich ein bis zwei Präzipitationslinien.

- Immunelektrophorese mit Antimagensaftserum

Die untersuchten Magensäfte ergaben zwei bis drei Präzipitatsicheln. Das elektrophoretisch aufgetrennte und gegen das Antimagensaftserum diffundierende Normalserum zeigte dagegen nur eine Präzipitatsichel. Es wurden also ein bis zwei magenspezifische Proteine nachgewiesen. (Abb.5)

- Immundiffusion mit spezifischen Antiseren

Hier wurden neben den Nüchtern- bzw. Basalfraktionen auch mit Pentagastrin stimulierte Fraktionen untersucht,

mit Anti- saurem- alpha_1 -Glykoprotein

In nahezu allen Fällen von SPV + PP nach Holle(27,28) fand sich in den Basal- und Nüchternfraktionen ein deutlicher Niederschlag.

Bei stimulierten Probanden fand sich ein saures-alpha-Glykoprotein viel seltener.

mit Anti-alpha₂-Makroglobulin

Hiermit konnte bei keinem Patienten irgendein Eiweißbestandteil nachgewiesen werden.

mit Anti-alpha₁-Antitrypsin und Antitransferrin

Etwa in der gleichen Häufigkeit wie beim sauren-alpha-Glykoprotein fanden sich hier Präzipitate in den Nüchtern- bzw. Basalfraktionen. Ebenfalls fand sich Anti-alpha₁-Antitrypsin und Antitransferrin bei stimulierten Patienten weniger häufig als bei nicht stimulierten.

mit Antiimmunglobulin

Durchweg zeigten alle Patienten sowohl in den Nüchtern- bzw. Basalfraktionen, als auch in den stimulierten Fraktionen Immunglobuline.

Zusammenfassend läßt sich für die Immundiffusion sagen: je mehr die Säureproduktion unter Penta-gastrinstimulation des Patienten zunimmt, desto weniger Eiweißkomponenten lassen sich nachweisen. Zuerst fehlt saures-alpha₁-Glykoprotein und dann Antitrypsin und Transferrin. Immunglobuline bleiben am längsten nachweisbar.

5.3. Normalpersonen

Alle Normalpersonen zeigten in ihren Nüchtern- bzw. Basalfractionen das gleiche Bild in der Agarelektrophorese, der Immunelektrophorese mit Antihumanserum, Antimagensaftserum und Antimagenschleimhautserum und der Immundiffusion mit den spezifischen Antiseren wie unter Abschnitt 5.2. beschrieben.

6. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit habe ich mit angegebener Methodik versucht, die von PFISTER(38) gefundenen Proteinveränderungen nach SPV + PP nach HOLLE(27,28) näher zu charakterisieren.

6.1. Diskussion des Materials

Bei der Auswahl des Patientenkollektivs habe ich darauf geachtet, vergleichbare Verhältnisse zu schaffen. Die Untersuchungen fanden alle im Frühjahr statt, zwischen 8.30h und 12h, das Alter lag zwischen 30 und 55 Jahren, das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Probanden war 3:1. Ferner habe ich Wert darauf gelegt, daß keine starken Raucher unter den Patienten waren, und keine magenschleimhautschädigenden Medikamente wie Aspirin, Antiphlogistica, Corticosteroide, Anticholinergica und Alkohol eingenommen wurden. Die Gewinnung des Magensaftes geschah in Linksseitenlage. Magensäfte mit makroskopisch sichtbarer Gallebeimengung oder Blutbeimengung (hier wurde in Zweifelsfällen mit Hämostix kontrolliert) habe ich verworfen. Einen Fall mit makroskopisch sichtbarer Blutbeimengung habe ich mit spezifischen Antiseren untersucht, konnte

aber nur Gamma-Globuline nachweisen: Ein möglicher Hinweis auf die rasch ablaufende intragastrale Proteolyse, der am ehesten die Gamma-Globuline zu widerstehen scheinen. Darauf wird aber noch in der Diskussion der Ergebnisse näher eingegangen.

6.2. Diskussion der Methoden

a Agarelektrophorese

Die Agarelektrophorese ist eine einfache, wenn- gleich auch - verglichen mit den anderen aufgeführten Methoden - wenig aufschlußreiches Verfahren, um Eiweiße nachzuweisen. Zu beachten ist, daß die Glasplatten vor dem Auftragen des Agars absolut fettfrei sind, da es sonst zu einem inhomogenem elektrischen Feld kommt, das die Wanderungsrichtung und -geschwindigkeit der Proteine verändert. Ich habe die Glasplatten mit einem Gemisch aus absolutem Alkohol und Aqua bidest. gereinigt und anschließend mit einem Luftstrahl staubfrei gemacht. Ferner ist zu beachten, daß bei der Beschichtung mit flüssigem Agar die Platten waagrecht liegen (Wasserwaage!). Das Einfüllen der Proben in die sorgfältig zu stanzenden Aussparungen hat exakt zu erfolgen, um eine genaue Auftrennung zu garantieren. Das Untersuchungsmaterial habe ich mit einer Eppendorfpipette aufgetragen.

b Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese ist eine einfach durchzu-

führende und zuverlässige Methode, um immunbiologisch Eiweiße nachzuweisen. Wichtig ist auch hier die völlige Fettfreiheit der Glasplättchen und eine sorgfältige Stanzung. Die Abweichung der Abstände der Löcher von den Rillen ergibt ungenaue Ergebnisse. Ich habe eine Spezialstanze der Fa. Egaton AG/Schweiz verwendet. Die Reinigung und Beschichtung mit Agar geschah wie oben beschrieben. Das Einfüllen der Proben auf 0,1 μ l genau ermöglichte mir eine Spezialpipette ("Hamiltonspritze")

c Immundiffusion

Sie ist mittlerweile auch eine im Routinebetrieb brauchbare und ausgereifte Methode. Bei Beachtung der unter Abschnitt 6.2.a und 6.2.b aufgeführten Punkte habe ich auch hier gut reproduzierbare Ergebnisse erhalten.

d Präparation des Magensaftes

Die beiden größten Schwierigkeiten lagen in der schleimigen Konsistenz des Magensaftes und der geringen Konzentration seiner Proteine. Ersterer wurde durch Homogenisieren und anschließendem Zentrifugieren begegnet, der letzteren durch Konzentrieren auf das 60 bis 100fache. — Der Zusatz von 8ml DMSO zu 2ml Magensaft, um Eiweiße auszufällen und anschließendem Zentrifugieren nach MAIWALD und REGNAT(34) war nicht geeignet, um Transferrin, Alpha₁-Antitrypsin und Gamma-Globuline im Magensaft von gesunden Probanden und Patienten mit SPV + PP nachzuweisen.

6.3. Diskussion der Ergebnisse

Die von mir durchgeführten Untersuchungen haben zu folgenden Befunden geführt:

Präoperative und gesunde mit Pentagastrin stimulierte Probanden zeigten wenige bis keine Präzipitate (Abb.6).

Erst postoperativ war es mir möglich, Proteine im Magensaft nachzuweisen. Die Ergebnisse der Immunoelektrophorese zeigen unter konstanten Bedingungen eine deutliche Zunahme sowohl der Zahl, als auch der Intensität der Präzipitate von Serumproteinen nach SPV + PP gegenüber unbehandelten Patienten mit Ulcus duodeni. Das gilt sowohl für das Antihumanserum, das Antimagenschleimhautserum und das Antimagensaftserum. Das mag zum Teil daran liegen, daß bei unbehandelten Ulcus duodeni Trägern auf Grund der niedrigen pH-Werte und damit hohen Säuresekretion eine intragastrale Proteinspaltung erfolgt(21). Hier sei auf die Abbildungen 7-10 verwiesen: Sie zeigen das immunoelektrophoretische Bild der Basalfraktion und der drei folgenden stimulierten Fraktionen eines Patienten. Zum Teil kann es auch daran liegen, daß durch Titration der sauren Magensäfte eine zu starke Verdünnung erfolgt. Die SPV + PP nach HOLLE(27,28) reduziert die Säure- und Pepsinogensekretion erheblich, sodaß eine intragastrale Proteinspaltung praktisch nicht stattfindet.

Bei der Immunodiffusion fand ich bei fast allen

Patienten mit SPV + PP und dem Normalkollektiv in den Basal- und Nüchternfraktionen - mit Ausnahme des Alpha₂-Makroglobulins - überall einen deutlichen Niederschlag. Wie bei der Immunelektrophorese zeigte sich auch hier eine deutliche Abhängigkeit der Präzipitate von dem pH-Wert der Magensäfte: Bei steigender Säureleistung nahm die Zahl der nachgewiesenen Proteine ab. Zuerst war saures Alpha₁-Glykoprotein, dann in etwa gleichem Maße Alpha₁-Antitrypsin und Transferrin nicht mehr nachweisbar. Immunglobuline waren noch bei pH-Werten bis >2.5 darzustellen.

Nach HOLLANDERS Zweikomponententheorie(26) bildet neben der Magenschleimhaut der visköse Mucus - hier besonders die sauren Glykoproteine - das hauptsächliche Hindernis gegen die Selbstverdauung. Diese Theorie wurde experimentell von verschiedenen Autoren(31,46, 47) untermauert. Ein Mangel an sauren Glykoproteinen müßte also zu einer erhöhten Verletzbarkeit der Schleimhaut führen. Einige Forscher fanden bei Ulcus duodeni und/oder -ventriculi einen pathologisch veränderten Magenschleim(6,8,19,47,48).

Neuere Vorstellungen über die Ulcusgenese befassen sich mehr mit den Beziehungen von Vagotonus, Gastrinsekretion und Gallereflux(37). Es wäre demnach möglich, daß die starke Säuresekretion, bedingt durch Vagotonus und Gastrin, zu einer Proteolyse von Glykoproteinen führt und so die Magenschleimhaut einer Barriere gegen die Selbstverdauung beraubt.

PFISTER(38) fand mit der Biuret-Methode die Proteinkonzentration in den Nüchtern- und Basalfraktionen von unbehandelten Ulcus-duodeni-Patienten gegenüber den Normalpersonen kaum verändert. Er stellte ferner nach SPV + PP keine Veränderung der Proteinkonzentration in den Nüchtern- und Basalfraktionen fest. Ich fand jedoch nur bei Normalpersonen und nach SPV + PP in den Nüchtern- und Basalfraktionen Proteine, nicht aber bei unbehandelten Ulcus-duodeni-Patienten. Dies erkläre ich damit, daß die Biuret-Methode wegen der sofort einsetzenden Verdauung vor allem die fermentativen Abbauprodukte(Polypeptide, Peptide)der hyperaciden Magensäfte erfaßte.

Ein Vergleich mit weiteren Arbeiten, die sich mit den Eiweißveränderungen nach SPV + PP befassen, ist nicht möglich, da meine Untersuchungen die ersten dieser Art sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Nüchtern- ~~bzw.~~ Basalfraktionen von 13 Patienten mit unbehandeltem Ulcus duodeni, 39 Patienten mit SPV + PP nach HOLLE und vier Kontrollpersonen auf ihren Eiweißgehalt im Magensaft untersucht.

Der Nachweis der Proteinkomponenten erfolgte mit Hilfe der Agarelektrophorese, der Immundiffusion mit spezifischen Antiseren, der Immunelektrophorese mit Antihumanserum und Antimagensaftserum. Die Magensäfte wurden vorher dialysiert und konzentriert.

Ergebnisse:

Erst nach SPV + PP (und bei Normalpersonen) war es mir möglich, Proteine nachzuweisen. In der Agarelektrophorese fand ich 3 Banden, in der Immunelektrophorese mit Antihumanserum 4 bis 7 Präzipitatsicheln und mit Antimagensaftserum 2 bis 3 Präzipitate. Bei der Immundiffusion habe ich saures Alpha₁-Glykoprotein, Alpha₁-Antitrypsin, Transferrin und Gamma-Globuline nachgewiesen. Je saurer die Säfte waren, desto weniger Proteine waren nachzuweisen. Zuerst war saures Alpha₁-Glykoprotein nicht mehr nachweisbar, dann Alpha₁-Antitrypsin und Transferrin, zuletzt die Gamma-Globuline.

In der Diskussion werden die Ergebnisse näher interpretiert und in den pathophysiologischen Rahmen gestellt. Ein Vergleich mit Arbeiten anderer Autoren ist nicht möglich, da diese Untersuchung die erste dieser Art darstellt.

A N H A N G

I. A b b i l d u n g e n

II. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Nüchtern- ~~bzw.~~ Basalfractionen von 13 Patienten mit unbehandeltem Ulcus duodeni, 39 Patienten mit SPV + PP nach HOLLE und vier Kontrollpersonen auf ihren Eiweißgehalt im Magensaft untersucht.

Der Nachweis der Proteinkomponenten erfolgte mit Hilfe der Agarelektrophorese, der Immundiffusion mit spezifischen Antiseren, der Immunelektrophorese mit Antihumanserum und Antimagensaftserum. Die Magensäfte wurden vorher dialysiert und konzentriert.

Ergebnisse:

Erst nach SPV + PP (und bei Normalpersonen) war es mir möglich, Proteine nachzuweisen. In der Agarelektrophorese fand ich 3 Banden, in der Immunelektrophorese mit Antihumanserum 4 bis 7 Präzipitatsicheln und mit Antimagensaftserum 2 bis 3 Präzipitate. Bei der Immundiffusion habe ich saures Alpha₁-Glykoprotein, Alpha₁-Antitrypsin, Transferrin und Gamma-Globuline nachgewiesen. Je saurer die Säfte waren, desto weniger Proteine waren nachzuweisen. Zuerst war saures Alpha₁-Glykoprotein nicht mehr nachweisbar, dann Alpha₁-Antitrypsin und Transferrin, zuletzt die Gamma-Globuline.

In der Diskussion werden die Ergebnisse näher interpretiert und in den pathophysiologischen Rahmen gestellt. Ein Vergleich mit Arbeiten anderer Autoren ist nicht möglich, da diese Untersuchung die erste dieser Art darstellt.

A N H A N G

I. A b b i l d u n g e n

II. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

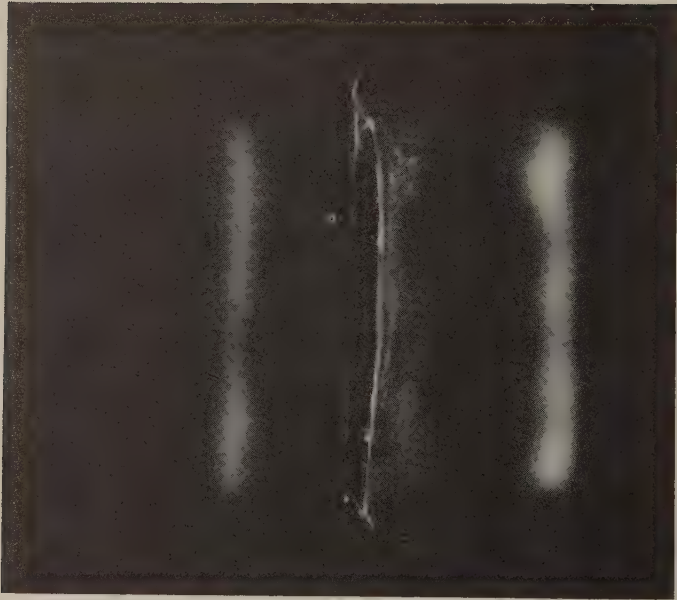


Abb.2 Agarelektrophorese

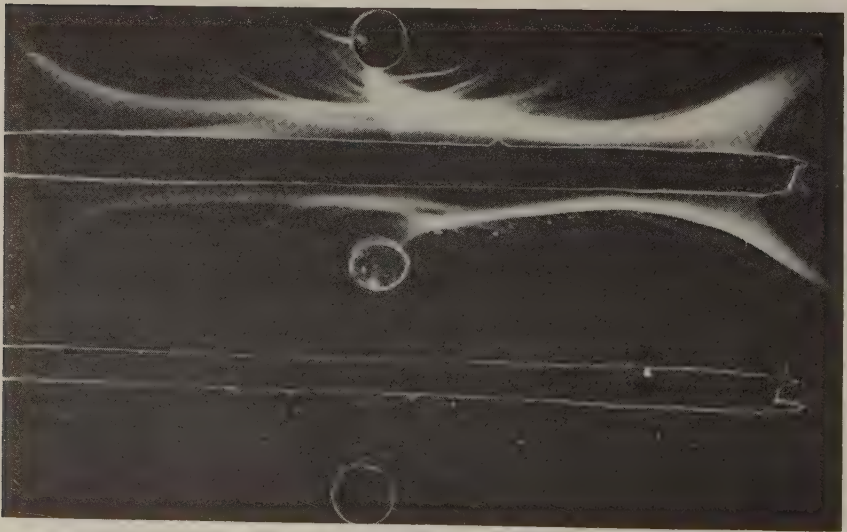


Abb.3 Immunelektrophorese mit Antihumanserum



Abb.4 Immunelektrophorese mit Antihumanserum

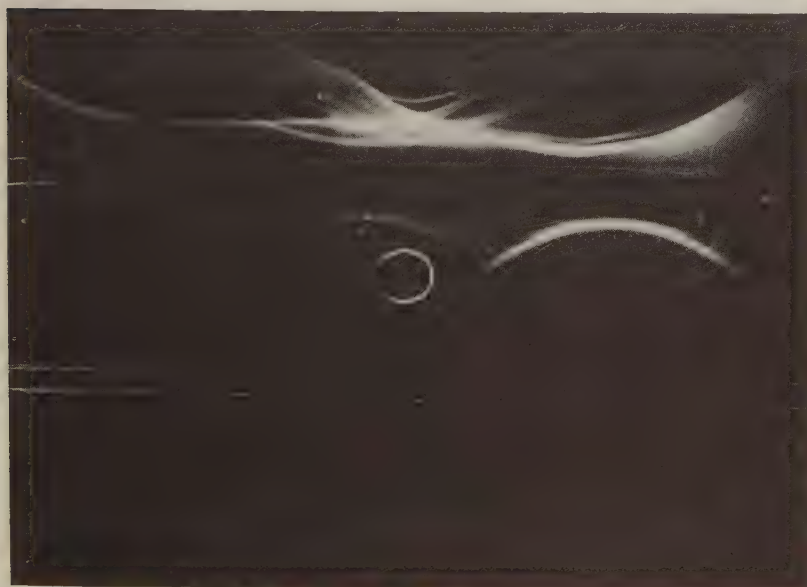


Abb.5 Immunelektrophorese mit Antimagensaftserum

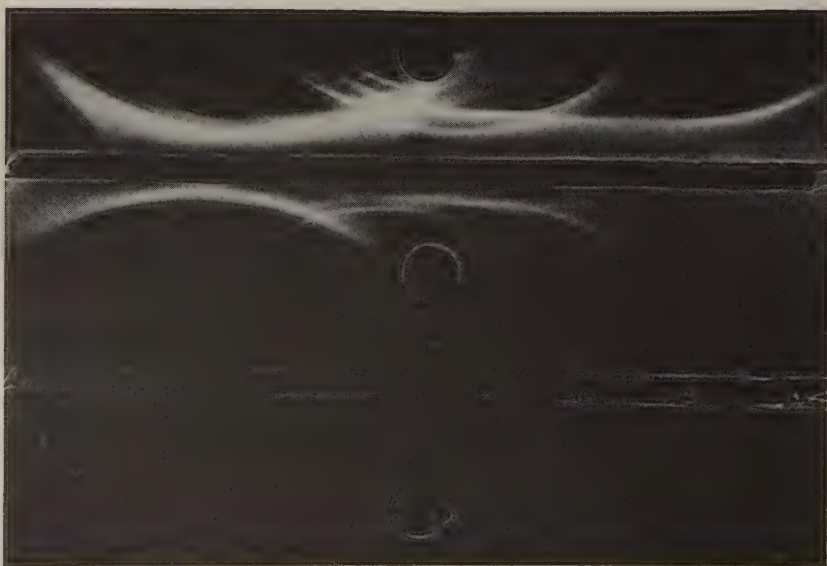
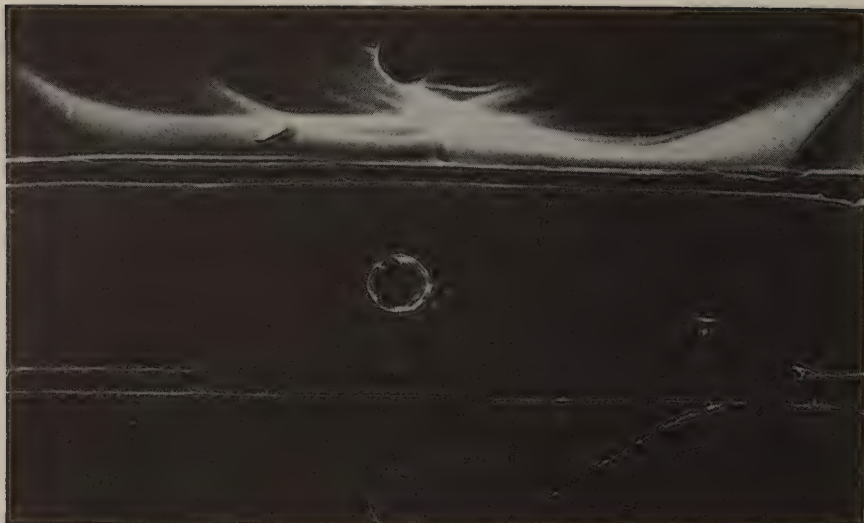


Abb.7-10 Immunelektrophorese mit Antihumanserum eines Patienten mit steigender Säuresekretion: Basalfraktion

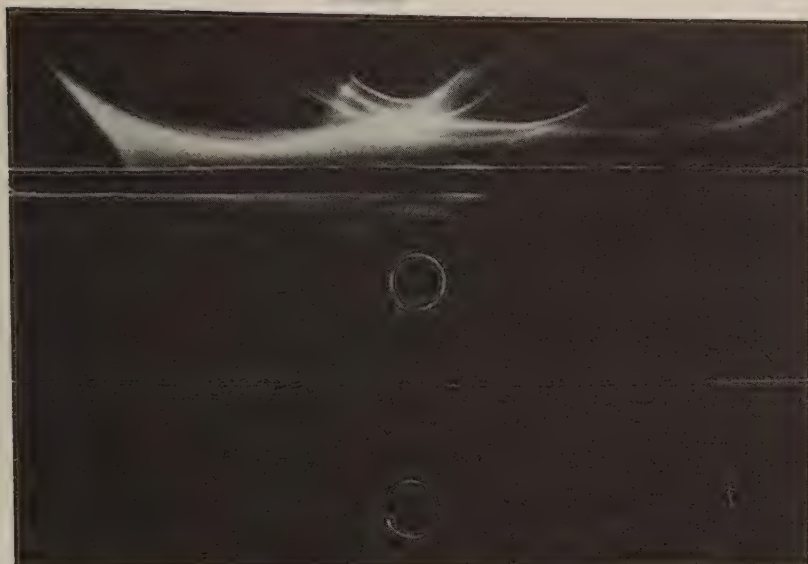


Abb.8 10 Minuten nach Stimulation mit Pentagastrin

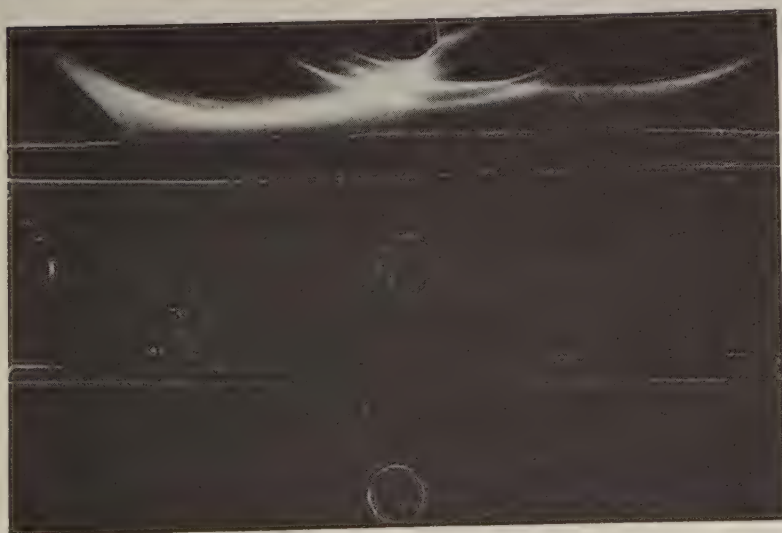


Abb.9 20 Minuten nach Stimulation mit Pentagastrin

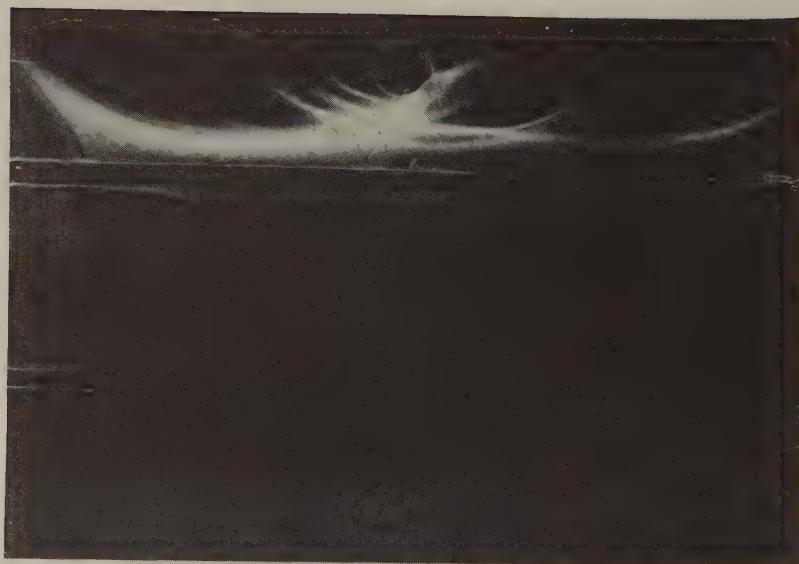


Abb10 30 Minuten nach Stimulation mit Pentagastrin

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) BACHRACH, W.H.: Action of insulin hypoglycemia on motor secretory functions of the digestive tract. *Physiol.Rev.* 33 (1953), 566-592.
- 2) BOLKOVA, A., PALUSKA, E.: Immunochem. Studium der Eiweißstoffe des Magensaftes beim Menschen. Sonderdruck aus: *Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Allergie und klinische Immunologie.* 130, (1966) 444.
- 3) BRUNSCHWIG, A., PROHASKA, J.: A secretory depressant in gastric juice of patients with pernicious anemia. *J.clin. Invest.* 18(39) 415.
- 4) CIECIURA, L., HIMMEL, A., TRIEF, H.: Histochem. Untersuchungen der Mucopolysaccharide der Magenschleimhaut des Menschen. *Acta histochem. (Jena)* 30 (1968) 31-40.
- 5) CROSS, D.N., RHODES, J.: Carbenoxolone: its protective action on gastric mucosa. *Proc. 9th Internat. Congr. Gastroenterology.* Paris 1972, S. 568c.
- 6) CURT, J.R.N., PRINGLE, R.: Viscosity of gastric mucous in duodenal ulceration. *GUT* 10(1969) 931.
- 7) DOLL, R., HILL, I.D.: Clinical trial of a triterpenoid liquorice compound in gastric and duodenal ulcer. *Lancet* II(1962) 793.
- 8) DOMSCHKE, W. et al.: N-Acetylneuraminic acid in gastric mucous: a possible mediator of carbenoxolone action in gastric ulcer patients. *Acta hepato-gastroent* 19(1972) 204.
- 9) GALL, F. : Magen Chirurgie, in: DEMLING, L. (Hrsg.): *Der kranke Magen.* München 1970.

- 10) GHEORGHIU, Th., FROTZ, H., KLEIN, H.J.: Einfluß von Carbenoxolon auf die Magensaft-Mucus-Sekretion der Ratte. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 77(1971) 511-515.
- 11) GLASS, G.B.J., BOYD, L.J.: Gastroenterology 12(1949) 821.
(zit. bei GLASS s.u.15)
- 12) GLASS, G.B.J. et al.: Comparative studies of mucoproteins of human gastric juice and serum. Gastroenterology 34(1958) 598-616.
- 13) GLASS, G.B.J. et al.: Measurement of sulfated and non-sulfated glykoproteins in human gastric juice under fasting conditions and following stimulation with histamin, pentagastrin and insulin. Digestion 2 (1969) 124-143.
- 14) GLASS, G.B.J., ISCHIMORI, A.: Passage of serum albumin into the stomach. Amer.J.dig.Dis.6 (1961) 103-133.
- 15) GLASS, G.B.J. : Proteins in gastric secretion, in: The Physiology of Gastric Secretion. Universitetsforlaget, Oslo 1968, 456.
- 16) GÖTZ, H., SCHEIFFART, F.: Vergleichende elektrophoretische und immunoelektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens. Gastroenterologia 98 (1962) 30-47.
- 17) GRABAR, P. : Die Methodik der immunoelektrophoretischen Analyse, in: Immunoelektrophoretische Analyse. Elsevier Amsterdam('64).

- 18) GRÄSBECK, R., SIMONS, K.: Purification of intrinsic factor and vitamin B₁₂ binders from human gastric juice. *Am. Med. exp. Fenn.* 40('62)1024.
- 19) GROSS, P. A. et al.: Hypoalbuminemia due to hypercatabolism, serum protein exodation into the gastrointestinal tract. *Amer. J. Med.* 29, 386- 404.
- 20) HEISKELL, Ch. L., et al.: Normalserum proteins in gastric juice. *Gastroenterology* 40('61)775
- 21) HENNING, N., KINZLMEIER, H., DEMLING, L.: Über die elektrophoretisch darstellbaren Proteine normaler und pathologischer Magensäfte. *Münch. med. Wschr.* 95 (1953) 423-426.
- 22) HILLER, E., BISCHOF, H.: Über den Protein- und Aminosäuregehalt des menschlichen Magensaftes dargestellt an der Papierelektrophorese und Papierchromatographie. *Medizinische* 48(1953)1541-1545.
- 23) HIRSCH-MARIE, H., BURTIN, B.: Etude électrophorétique et immunochimique des protéines du liquide gastrique normal. *Rev. Franc. Etudes Clin. Biol.* 8(1963) 145-155.
- 24) HIRSCHOWITZ, B. J.: Secretion of pepsinogen, in: CODE, C. (hrsg.): *Handbook of Physiology*, Vol. II, chapter 50. Baltimore: W&W 1967.
- 25) HÖLZEL, DA COSTA : zitiert aus: DEMLING, L.: *Handbuch der inneren Medizin* . Bd. 3, Teil 2, 1974, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, N.Y.
- 26) HOLLANDER, F.: The two component mucus barrier. *Archiv. Int. Med.* 93, (1954) 107-120.

- 27) HOLLE, F.: Spezielle Magen Chirurgie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, N.Y. 1968.
- 28) HOLLE, F., ANDERSON, S.: "Vagotomy" latest advances. Springer Verl. Berlin, Heidelb. N.Y. 74.
- 29) HOLMAN, H.M.D., et al.: Hypoproteinemia antedating intestinal lesions and possibly due to excessive serum protein loss into the intestine. Am.J. of Medicine 27 (1959) 963-975.
- 30) HUNNER, M.C., HUDSON, F.B., FLETCHER, T.L.: Stability of pepsin during storage in canine gastric secretion and in aqueous solutions. Proc. Soc. exp. Biol. 130, 1246-1250.
- 31) KOWALEWSKY, K., SCHIER, J.F.: Experimental peptic ulcer in dogs following the induced deficiency of gastric mucous barrier. In: 4th world congress of gastroenterology, Copenhagen '70.
- 32) LEY, R., BREMEN, J.: Physiology of the secretion of acid, pepsin and sulfated polysaccharides. Digestion 2(1969) 113-123.
- 33) LIPKIN, M.: Carbenoxolone sodium and the rate of ex- struction of gastric epithelial cells. In: BARON, J.: Carbenoxolone sodium, London, Butter worths, 1970, p.11-17.
- 34) MATWALD, L., REGNAT, Y.: Über die Trennung von Serumpro- teinen in Dimethylsulfoxid(DMSO) Vero- nalpuffer mit Hilfe der Papierelek- trophorese. Zschr. Verb. Techn. Ass. 1, (1970), 7-14.
- 35) MATWALD, L., WEICKER, U.: Veränderte Zusammensetzung des Magenschleims nach Carbenoxolon- behandlung. Z.Gastroent. 10(1972)17.

- 36) MOZSIK,R., et al.: Alterations in stomach wall glykoproteins during gastric ulceration by pyloric ligation. Digestion 5 (1972) 253-260.
- 37) OTTENJAHN,R.: Neue Aspekte in der Pathophysiologie des Ulcusleidens. Münch. med. Wchschr. 116(1974) 181-184.
- 38) PFISTER,U.v.: Der Einfluß der selektiven proximalen Vagotomie auf die Zusammensetzung des Magenschleims. Diss. LMU Münch. 1976.
- 39) PIPER,D.W.,WHITE,D.: Alcian blue binding properties of gastric juice. Gastroenterology 59 (1970), 534-538.
- 40) PIPER,D.W. et al.: Gastric mucous secretion in normal subjects and patients with gastric ulcer, gastric carcinoma and pernicious anemia. Am.J.Dig.Dis. 10 (1965), 411-419.
- 41) PIPER,D.W., et al.: The electrophoretic pattern of normal human gastric juice of patients with gastric ulcer and gastric cancer. J.Brit.Soc.Gastr. GUT 4(1963), 236.
- 42) PIPER,D.W. et al.: The electrophoresis of human gastric juice. J.Brit.Soc.Gastr. GUT 3 (1962), 349.
- 43) PUGH,B.L. et al.: Electrophoretic studies of the mucin fractions from the human gastric juice. Proc.Soc.Exper.Biol.&Med. 79 (1952), 674.

- 44) RICHMOND, V., CAPUTTO, R., WOLF, S.: Biochemical studies on the large molecular constituents of gastric juice. *Gastroenterology* 29 (1959), 593-598.
- 45) RICHMOND, V., CAPUTTO, R., WOLF, S.: Fractionating of the non-dialyzable soluble components of gastric contents by chromatography on Amberlite ICR 50. *Arch. Biochem.* 65 (1957), 155-166.
- 46) SCHRAGER, J.: The chemical composition and function of gastrointestinal mucous. *GUT* 11 (1970), 450-456.
- 47) SCHRAGER, J.: The isolation of the principle gastric glykoprotein and its physiological function, In: 4th World congress of gastroenterology, Kopenhagen 1970.
- 48) SCHRAGER, J.: Sulfated mucopolysaccharide of gastric secretion. *Nature* 201(1964), 702-704.
- 49) SCHWANN, T. L.: Über das Wesen des Verdauungsprozesses. *Poggendorf Ann. Phys. Chem.* 38 (1836), 358-364.
- 50) SCOTT, J. E. et al.: The chemical and histochemical properties of alcian blue. I, the mechanism of alcian blue staining. *Histochem.* 4(1964), 73-85.
- 51) STRAUB, P., MAIWALD, L.: Funktionelle Beziehungen zwischen Serumeiweiß und Magensaft-eiweiß. *Zschr. Verb. Techn. Ass.* 3(1977), 7-14.
- 52) TENEROVA, M., STUCHLIKOVA, E., KORINEK, J.: Agarophoresis and immunelektrophoresis of the proteins of gastric juice. *Nature* 192(1961), 763-770.

- 53) TENEROVA,M.,STUCHLIKOVA,E.,KORINEK,J.: Proteins of gastric juice; electrophoresis on agar and immunoelectrophoresis. Sborn. lék. 63(1961), 211-218.
- 54) WALDRON-EDWARD,D.: Der Magenschleim. Übersichtsreferat: Leber, Magen, Darm. 2. 7. 1972, 267-274; zitiert aus: DEMLING, L.: Handbuch der inneren Medizin. Bd. 3, Teil 2, 1974, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Herrn Professor Dr.F.Holle danke ich aufrichtig für die mir bereitwillig gewährte Überlassung der Arbeitsmöglichkeit an der Klinik.

Für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit möchte ich dem Oberarzt an der Chirur-gischen Poliklinik München, Herrn Privatdozenten Dr.W.L.Brückner recht herzlich danken.

Frau I.Lehr danke ich für praktische Ratschläge bei der experimentellen Durchführung der Arbeit.

Frau Knovel danke ich dafür, daß sie die Arbeit in die vorliegende Form brachte.

Mein Dank gilt auch Herrn H.Schmitz für die photographische Wiedergabe der Präparate.

L E B E N S L A U F

Am 3. Januar 1950 wurde ich als Sohn des im Jahre 1969 verstorbenen Dr. phil. Heinz Hinke und seiner Ehefrau Helga, geb. Chifflard, in München geboren.

Von 1956 bis 1961 besuchte ich die Volksschule und trat nach der 5. Klasse in das Luitpold-Gymnasium München (neusprachlicher Zweig) ein, wo ich im Mai/Juni 1970 das Abitur ablegte und das Zeugnis der Reife erhielt.

Nach einem auf Grund des Numerus Clausus verlorenen Semesters studierte ich ab Sommer 1971 an der Ludwig-Maximilians-Universität München Medizin.

Mein Physikum legte ich 1973 ab. Am 20. Juni 1977 legte ich vor dem Ausschuß für die ärztliche Prüfung das Staatsexamen ab.

